

Induzione di arti soprannumerari negli Anfibi (particolarmente negli Anuri) mediante sostanze citolitiche

Di T. PERRI¹, Roma

1. Introduzione

Sino a qualche decennio addietro, la morfologia causale degli arti si basava essenzialmente su esperienze di trapianti e di rigenerazione. Un nuovo ordine di ricerche cominciò con le esperienze della LOCATELLI² negli Urodeli adulti e con quelle del BALINSKY³ negli embrioni di Tritone: ossia lo studio degli arti soprannumerari da induzione abnorme negli Urodeli.

I risultati del BALINSKY furono riconfermati da altri autori che sperimentarono anch'essi su embrioni di Urodeli mediante trapianto di abbozzi normali; per gli Anuri ne fu ottenuto un caso solo (FILATOW in *Bufo vulgaris*⁴).

Le mie esperienze sull'induzione di arti soprannumerari negli Anuri, i cui primi risultati positivi risalgono al 1946⁵, si differenziano da quelle del BALINSKY perché ho usata l'azione induttiva (stimolante) di sostanze citolitiche. A questo scopo ho eseguito il trapianto sul tronco di embrioni normali allo stadio di bottone codale piccolissimo, di complessi di abbozzi che per essere in particolari condizioni (li asportavo da embrioni röntgenirradiati con dosi nettamente letali) vanno gradualmente in necrosi e gradualmente liberano sostanze citolitiche, le quali sono potenti stimolanti che venendo a contatto con la somatopleura la stimolano ed essa forma lo scheletro di uno o più arti soprannumerari.

Il vantaggio che offre questa tecnica è di poter sperimentare con risultati positivi (il che invece non avviene con le altre tecniche) sugli Anuri, che tra l'altro sono un materiale prezioso sia perchè molto comune, sia per la facilità del loro allevamento e anche, almeno per alcune specie, per la rapidità con cui raggiungono la metamorfosi. È una tecnica in sostanza assai semplice; e i risultati positivi sono in fortissima percentuale. Inoltre sono numerosi i casi in cui gli arti soprannumerari indotti sono conformati assai bene, e questo facilita molto lo studio di varie questioni di morfologia. Varie volte si ha l'induzione di più arti (mentre negli Urodeli furono finora ottenuti solo arti

unici), e vedremo come ciò serva alla verifica delle leggi del BATESON.

Più recentemente (ne parlerò nel paragrafo 7) ho iniziato esperienze su embrioni di Tritone per avere un diretto confronto tra i due ordini di Anfibi. Come esperienze di controllo, ho pure eseguito, in *Bufo vulgaris*, trapianti di abbotto di arto tra giovani embrioni.

Tutte le ricerche di morfologia causale degli arti hanno come scopo un approfondimento sia di problemi di biologia generale sia di problemi più propriamente morfologici. Gli arti da induzione abnorme pongono inoltre condizioni nuove, onde problemi propri a queste nuove condizioni, come vedremo nei prossimi paragrafi. Per ora osservo che lo studio degli arti soprannumerari da induzione abnorme negli Anfibi Anuri pone condizioni per vari aspetti differenti che negli Urodeli, in relazione alle peculiarità che esistono nei primi nella conformazione degli arti (e nel piano generale dell'organizzazione scheletrica, muscolare, nervosa, ecc.), peculiarità a loro volta correlate con l'attitudine al salto che si ha negli Anuri e che non si ha invece negli Urodeli.

Lo scopo della presente pubblicazione è di esporre sinteticamente i risultati che ho finora raggiunti, in molti anni di esperienze.

2. Capacità induttive delle sostanze citolitiche

La tecnica ch'io ho usata (v. fig. 1) consiste essenzialmente nel trapianto di alcune parti (per lo più la parte apicale della testa) di embrioni röntgenirradiati con dosi nettamente letali, sul tronco di embrioni normali, quasi sempre allo stadio di bottone codale piccolissimo. La parte trapiantata, in conseguenza della röntgenirradiazione subita, va gradualmente in necrosi e in tal modo gradualmente libera i suoi prodotti citolitici. Ha molta importanza il volume del trapiantato, perchè ad un volume maggiore di esso corrisponde una più grande quantità di prodotti citolitici. Sono questi che stimolano la somatopleura con la quale vengono a contatto e la somatopleura, per la sua ben nota competenza artoformativa (v. il paragrafo appresso), dà luogo a uno o più arti soprannumerari.

Si vede subito come la tecnica da me adottata diversifichi notevolmente da quella del BALINSKY e di

¹ Istituto di Anatomia comparata «G. B. Grassi» dell'Università di Roma, diretto dal Prof. G. COTRONEI.

² P. LOCATELLI, Arch. ital. de Biol. 74, 1 (1924).

³ B. I. BALINSKY, Roux' Arch. Entw. mech. 105, 718 (1925).

⁴ D. FILATOW, Roux' Arch. Entw. mech. 127, 776 (1933).

⁵ T. PERRI, Rend. Accad. naz. Lincei 1 (serie 8^a), 995 (1946).

altri autori (FILATOW⁶, GLICK⁷, CHOI, ecc.), negli Urodeli, che come stimolo adottarono il trapianto di abbozzi normali, per lo più di quello otico o del placode olfattorio. Tale tecnica (trapianto della vescicola otica) era stata usata dal BALINSKY⁸ negli Anuri, ma senza risultati positivi.

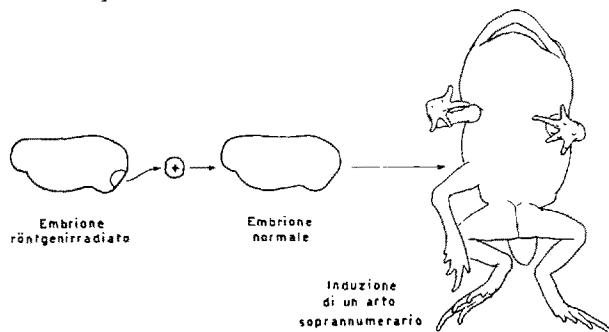


Figura 1. Schema. Da un embrione röntgenirradiato con dosi nettamente letali viene asportata la parte apicale della testa, che viene trapiantata sul tronco di un embrione normale. Il trapiantato va in necrosi e la somatopleura stimolata forma un arto soprannumerario.

Era noto da tempo, particolarmente per le ricerche dell'HABERLANDT, che le sostanze citolitiche sono stimolanti della proliferazione cellulare: importanza preponderante si dà ai protidi e ad alcuni prodotti della loro scissione. Per opera del BRACHET⁹ e della sua scuola si è data grande importanza all'acido ribonucleico. In un mio lavoro¹⁰, a carattere sintetico, sulle capacità induttive dei prodotti di citolisi, conclusi che essi sono potenti attivatori delle attività delle cellule ivi compresa la proliferativa: mi occupai pure¹¹ dell'importanza dell'acido ribonucleico nell'induzione degli arti soprannumerari.

Da ricordare l'esperienza del NASSONOV¹² nelle quali egli, legando un arto di Axolotl così strettamente da determinare istolisi dei tessuti compressi dalla legatura, ebbe lo sviluppo di un arto soprannumerario. FEDOTOV¹³ ottenne arti soprannumerari in Axolotl mediante idrolisati di cartilagine impiantati sotto la cute.

Per avere nei miei casi una dimostrazione diretta dell'importanza della röntgenirradiazione subita dal trapiantato, e quindi dell'importanza dei prodotti di citolisi, eseguii il confronto con il trapianto della stessa regione cefalica, partendo però non più da embrioni röntgenirradiati bensì da embrioni normali. In queste condizioni, ossia di trapianto di tessuti non destinati ad andare in necrosi, la capacità di stimolo è presente ma molto meno potente: si hanno infatti induzioni

scarsissime e molto atipiche. Altre ricerche che convalidano queste conclusioni, riguardano lo studio dei primi stadi della formazione di gemme soprannumerarie. Infatti nei casi di trapianto di abbozzi röntgenirradiati, si osservano accumoli di cellule mesenchimatiche i quali vengono a costituire gemme di arto; se invece il trapiantato non era röntgenirradiato, allora questi accumoli sono molto scarsi e a volte vi sono pochissime cellule mesenchimatiche. Risulta inoltre da questo tipo di esperienze, che si ha dapprima la necrosi del trapiantato e successivamente, quando la necrosi è già in atto o in gran parte già compiuta, inizia la costituzione delle gemme soprannumerarie di arto. Si tenga presente che è con la necrosi che le cellule liberano il loro acido ribonucleico.

In più recenti ricerche (PERRI e NOTARNICOLA¹⁴) si è visto che anche negli Urodeli il trapianto della parte apicale della testa ha dato risultati di gran lunga migliori quando proveniva da embrioni röntgenirradiati anziché da embrioni normali.

Risultata così chiaramente provata la capacità stimolatrice delle sostanze citolitiche, vediamo se vi abbia importanza la causa che provoca la necrosi del trapiantato. Ricordo che l'induzione di arti soprannumerari l'ottenni pure mediante il trapianto, sul tronco di embrioni normali di *Bufo vulgaris*, di complessi di abbozzi cefalici asportati da embrioni ibridi letali *Bufo viridis* ♀ × *Bufo vulgaris* ♂, i quali abbozzi andarono distrutti interamente o in gran parte.

Adunque non ha importanza la causa che porta in necrosi il trapiantato, l'importante è che la liberazione delle sostanze citolitiche sia graduale e in notevole quantità (sufficiente volume del trapiantato). Nelle mie ricerche ho preferito usare la röntgenirradiazione, perchè tecnica assai semplice e che dà, come ho già detto nell'Introduzione, risultati positivi numerosissimi, a volte fino al 100% dei casi come ebbi in qualche gruppo di esperienze in *Bufo vulgaris*.

3. Competenza artoformativa della somatopleura

Lo SPEMANN¹⁵ distingueva, nel sistema induttivo, il sistema attivo dal sistema reagente. Questo sistema reagente, il cui concetto risale ormai a molti decenni addietro, è ciò che oggi chiamasi, più comunemente, «competenza».

La somatopleura che sta tra gli arti normali ha, com'è noto, una latente capacità (o competenza) a formare arti. Furono proprio le ricerche del BALINSKY sugli arti soprannumerari negli Urodeli, che posero in evidenza una così insospettata estensione della somatopleura che ha questa competenza.

Nel paragrafo precedente ho parlato dello stimolo. Quando questo è abbastanza intenso e nel suo campo

⁶ D. FILATOW, Roux' Arch. Entw. mech. 110, 1 (1927).

⁷ B. GLICK, Anat. Rec. 48, 407 (1931).

⁸ B. I. BALINSKY, Roux' Arch. Entw. mech. 110, 63 (1927).

⁹ J. BRACHET, *Embryologie chimique* (Masson, Paris 1947); in: *Acidi nucleici, proteine e differenziamento normale e patologico* (Rosenberg e Sellier, Torino 1949), pag. 1.

¹⁰ T. PERRI, Ricerca Scientifica 21, fasc. 7 (1951).

¹¹ T. PERRI, Rend. Accad. naz. Lincei 7 (serie 8^a), 158 (1848); 8 (serie 8^a), 394 (1950).

¹² N. V. NASSONOV, Roux' Arch. Entw. mech. 121, 639 (1930).

¹³ D. M. FEDOTOV, Nature 158, 367 (1946).

¹⁴ T. PERRI e L. NOTARNICOLA, Rend. Accad. naz. Lincei 17, (serie 8^a), 77 (1954).

¹⁵ H. SPEMANN, *Experimentelle Beiträge zu einer Theorie der Entwicklung* (Springer, Berlin 1936).

d'azione vi è la somatopleura, si ha che questa estrinseca la sua competenza artoformativa.

Occorre ora esaminare tale competenza della somatopleura, studiandone partitamente i vari aspetti che ho potuto riscontrare negli Anuri e che porrò in comparazione con quanto si osserva negli Urodeli, in base alle osservazioni del BALINSKY nonché a quelle da me recentemente raccolte.

Anzitutto anche negli Anuri, come negli Urodeli, tutta la somatopleura che sta tra gli arti ha competenza artoformativa. Tale competenza non è uguale in tutta la somatopleura, ma presenta variazioni qualitative e quantitative, a seconda della zona considerata ossia a seconda che questa zona sia più o meno vicina all'arto normale anteriore o al posteriore.

Le differenze qualitative consistono nel fatto che una parte della somatopleura ha competenza a dare arti anteriori e l'altra a dare invece arti posteriori. (La qualità della lateralità, ossia il trattarsi di arti di lateralità destra o sinistra, è una questione a sè stante che esaminerò al paragrafo 5). BALINSKY¹⁶ aveva osservato – negli Urodeli – che vi è una zona anteriore che dà arti anteriori e una zona posteriore che li dà posteriori, e che le due zone parzialmente si sovrappongono. Negli Anuri ho osservato che in un po' meno della metà anteriore del tronco si hanno arti anteriori oppure atipici però mai (e questo è l'importante) arti posteriori; nella metà (presso a poco) posteriore del tronco si hanno arti posteriori o atipici, però mai anteriori; nella zona intermedia alle due precedenti gli arti indotti possono essere sia anteriori che posteriori, ma più frequentemente sono atipici. È molto interessante notare¹⁷ che alla somatopleura che dà arti posteriori, corrisponde, nella colonna vertebrale, quella parte le cui vertebre sono suscettibili (competenti) di sacralizzazione. Osservo infatti che in esperienze in Anuri di trapianto di abbozzo di arto, l'HODLER¹⁸ ottenne, al massimo, la sacralizzazione della 6^a vertebra; io ottenni, come massimo, la sacralizzazione della 5^a. Si consideri ad esempio il caso della figura 2: per l'arto soprannumerario anteriore il centro della testa omerale giace su un piano trasversale passante per il processo trasverso della 4^a vertebra; mentre per l'arto soprannumerario posteriore il centro della testa femorale è su un piano trasversale che passa per il processo trasverso della 6^a vertebra. Come si vede ciò convalida quanto ho detto sopra.

Per le variazioni quantitative della competenza artoformativa della somatopleura, si osserva anzitutto che la facilità con cui si hanno arti soprannumerari non è la stessa in tutta la sua estensione. Il BALINSKY¹⁶ trovò negli Urodeli che il massimo di frequenza si ha in corrispondenza del 6° segmento, ossia in una zona un po' più vicina agli arti anteriori che ai posteriori.

Nelle mie ricerche è emerso che negli Anuri il massimo di frequenza e la maggiore tipicità dell'indotto (questi due fatti vanno insieme) si ottengono nel terzo posteriore del tronco, viene poi il terzo anteriore e infine il terzo medio. Ciò avevo osservato, e lo notai esplicitamente, mediante il trapianto della parte apicale della testa. Ma molto più chiaramente potei notare tale differente suscettibilità mediante il trapianto della regione branchiale di embrioni röntgenirradiati¹⁹. Questo trapianto si è mostrato, nelle mie esperienze, dotato di una potenza di stimolo nettamente inferiore (qualunque ne sia la causa) che nel trapianto della parte apicale della testa. Orbene, il trapianto della regione branchiale si è manifestato capace d'indurre arti soprannumerari solo nel terzo posteriore del tronco. Si ha così la prova, come dicevo sopra, della differente suscettibilità della somatopleura a seconda della regione del corpo cui appartiene. Può darsi (è un'ipotesi) che ciò sia correlato con le notevolissime differenze di lunghezza e di volume che si hanno negli Anuri tra arti anteriori e arti posteriori.

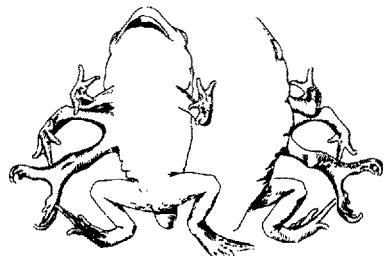


Figura 2. *Bufo vulgaris*. Induzione sul lato destro del tronco di un arto soprannumerario anteriore di lateralità sinistra, e di un arto soprannumerario posteriore duplice di cui il componente più cefalico è di lateralità destra e l'altro di lateralità sinistra. Chiaro esempio di simmetria speculare tra gli arti. L'arto soprannumerario anteriore era dotato di mobilità (disegno). (Da T. PERRI, Memorie Accad. naz. Lincei, 1951.)

Vi è un aspetto¹⁹ delle variazioni della competenza artoformativa che è tipico per gli Anuri: riguarda la lunghezza degli arti indotti. È ben noto che negli Anuri, in armonia con la loro attitudine al salto, gli arti posteriori hanno una lunghezza di gran lunga maggiore che gli anteriori. Orbene, osservando la lunghezza massima che hanno nei miei casi gli arti a seconda del livello dove vennero indotti, si nota che la loro lunghezza va aumentando man mano che ci si allontana dagli arti normali anteriori per avvicinarci ai normali posteriori: in vicinanza di questi ultimi si hanno gli arti soprannumerari più lunghi, anche pressoché uguali a un normale arto posteriore. Adunque la lunghezza massima di un arto indotto è in funzione del posto dove esso viene indotto. Per i necessari confronti si noti che nulla di simile è stato notato nei tritoni ove, si ricordi, non esistono marcate differenze di lunghezza tra arti anteriori e posteriori. A maggior chiarimento

¹⁶ B. I. BALINSKY, ROUX' Arch. Entw. mech. 130, 704 (1933).

¹⁷ T. PERRI, Arch. ital. Anat. Embr. 48, 186 (1953).

¹⁸ F. HODLER, Rev. suisse Zool. 56, 747 (1949).

¹⁹ T. PERRI, Riv. Biol. 44, 181 (1952).

riferisco che in esperienze in *Bufo vulgaris* di trapianto²⁰, allo stadio di giovane embrione, dell'abocco dell'arto posteriore in vicinanza dell'abocco del normale arto anteriore, ho osservato che l'arto trapiantato si sviluppa di lunghezza pressoché uguale a quello di uno normale posteriore. Adunque la lunghezza di un arto (similmente a quanto erasi visto sopra per la natura di arto anteriore o posteriore) è una caratteristica della competenza della zona di somatopleura che dà l'arto, sia che trattisi di arto normale (esperienze di trapianto) che di arto indotto.

Il valore della competenza risulta inoltre dalle ampie variazioni di essa a seconda della specie nella quale si esperimenta²¹. Tra gli Anuri che ho finora esaminati, il maggior numero, non solo come numero assoluto ma anche come percentuale, di casi positivi d'induzione l'ottenni in *Bufo vulgaris*, ove, in alcuni lotti di esperienze, ebbi si può dire sino al 100% di casi positivi. Inoltre, proprio in questa specie osservai gli arti soprannumerari meglio conformati. Risultati scarsissimi ebbi finora in *Bufo viridis*. Negli ibridi vitali *Bufo vulgaris* ♀ × *Bufo viridis* ♂ ebbi finora 4 casi di arti soprannumerari ben conformati²². Buoni risultati ebbi in *Hyla arborea*. Qualche caso l'ottenni – su poche esperienze – in *Discoglossus pictus*. Una specie nella quale non ebbi mai risultati positivi è *Rana esculenta*, pur avendovi usata la stessa tecnica. Non ebbi neppure risultati positivi in *Rana agilis*, ma per questa specie ho eseguito poche esperienze.

Poichè la mancata induzione può dipendere sia da mancanza (o scarsità) di competenza, sia da scarsa intensità dello stimolo usato, per risolvere la questione eseguii esperienze di trapianto della parte apicale della testa di embrione röntgenirradiato di *Rana esculenta* su embrione di *Hyla arborea*, ed ebbi in vari casi l'induzione di arti soprannumerari; invece nel trapianto inverso (ossia da embrione röntgenirradiato di *Hyla arborea* su embrione normale di *Rana esculenta*) non ottenni mai casi positivi: ciò mostra chiaramente che in *Rana esculenta* la non induzione di arti soprannumerari dipende solo da una mancanza o deficienza di competenza. PERRI e NOTARNICOLA¹⁴ hanno recentemente mostrato che anche in *Triton* si possono avere arti soprannumerari mediante il trapianto di abbozzi röntgenirradiati di *Rana esculenta*²³.

Oltre alle variazioni a seconda della specie usata vi sono variazioni della competenza della somatopleura a seconda dello stadio nel quale si esegue l'esperimento.

²⁰ T. PERRI, Riv. Biol. 47, 1 (1955).

²¹ T. PERRI, Rend. Accad. naz. Lincei 12 (serie 8^a), 753 (1952); 14 (serie 8^a), 845 (1953).

²² T. PERRI, Mem. Accad. naz. Lincei 3 (serie 8^a), fasc. 2, sez. III (1951); Arch. Zool. ital. 39, 109 (1954).

²³ Questa mancanza o deficienza di competenza in *Rana esculenta* non è in contraddizione con il fatto che furono osservati in natura numerosi esemplari di questa specie portatori di arti soprannumerarie. Si tende a considerare questi reperti in nature come causati da duplicazione o triplicazione di arti normali già in sviluppo (v. T. PERRI, Rend. Accad. naz. Lincei 12 (serie 8^a), 753 (1952)).

Esperienze compiute in *Bufo vulgaris* sia da me²⁴ che dalla DEI²⁵ hanno mostrato che la competenza artoformativa è ancora presente nella seconda metà della vita embrionale e precisamente nello stadio corrispondente al no. 21 delle tavole dello sviluppo normale di *Rana pipiens* secondo SHUMWAY²⁶; con la tecnica da me usata tale competenza in embrioni più avanzati non si è più manifestata. Per gli opportuni confronti si tenga presente che in *Triton* (BALINSKY²⁷) la competenza artoformativa termina a embrione avanzato. In *Discoglossus pictus* (MISTRETTA, di questo stesso Istituto) la competenza è ancora presente all'inizio della vita larvale (larva nel senso del COTRONEI²⁸, ossia quando inizia l'alimentazione esterna). Per quanto riguarda l'inizio della competenza artoformativa, ricordo che in *Bufo vulgaris* è possibile il trapianto dell'abocco dell'arto, con successivo ottimo sviluppo, anche allo stadio di bottone codale piccolissimo, e quindi in tale stadio è già presente la detta competenza.

4. Morfologia degli arti indotti (sviluppo delle articolazioni, processi regolativi e interdipendenza tra cinto ed arto libero)

L'esame in toto e l'esame microscopico dei miei casi d'induzione negli Anuri hanno posto in evidenza che gli arti soprannumerari presentano una tipicità molto differente nei vari casi. La tipicità dipende sia dalla soglia della competenza della somatopleura, sia dalla potenza dello stimolo usato. Da casi con formazione di semplici cartilagini d'impossibile identificazione si giunge, attraverso tutti i gradi di passaggio, ad arti con lo scheletro pressoché normale.

In questi casi di maggior tipicità, sia per gli arti anteriori che per i posteriori, possono essere presenti tutte le parti scheletriche sia dell'arto libero che dell'emicinto, così come può essere deficiente qualche singola parte. L'articolazione tra emicinto e stilopodio è perfettamente conformata (v. figura 3) nei casi di arti soprannumerari dotati di mobilità (v. paragrafo 6) e lo può essere, per quanto è dato vedere all'esame microscopico (v. figura 4), nei casi di arti bene o discretamente conformati ma rigidi, e quindi in assenza di qualunque funzione.

Gli arti soprannumerari possono essere negli Anuri sia uno che più: in un caso ne ebbi cinque. Per la genesi dell'induzione di più arti oppure di arti parzialmente duplice o anche triplice, ricordo che dalle ricerche da me eseguite sui primi stadi di sviluppo²⁹ delle gemme soprannumerarie è risultato che si possono avere

²⁴ T. PERRI, Rend. Accad. naz. Lincei 14 (serie 8^a), 845 (1953); Arch. Zool. ital. 39 (1954).

²⁵ L. DEI, Riv. Biol. 46, 193 (1954).

²⁶ In R. RUGH, *Experimental embryology* (Burgess Publishing Company, Minneapolis 1948).

²⁷ B. I. BALINSKY, Roux' Arch. Entw. mech. 136, 250 (1937).

²⁸ G. COTRONEI, Arch. Zool. ital. 10, 85 (1932).

²⁹ T. PERRI, Mem. Accad. naz. Lincei 3 (serie 8^a), fasc. 2, sez. III (1951).

condizioni varie. Si possono osservare (lasciando da parte i casi di gemme singole) sia più gemme separate, sia gemme tra loro molto vicine o a contatto; in altri casi si notano gemme con due apici, ossia gemme che con ogni probabilità tendono a sdoppiarsi.

Lo sviluppo degli arti soprannumerari è sempre un po' ritardato rispetto a quello degli arti normali.

Per quanto riguarda la questione della regolazione o meno, ricordo che gli arti (arti liberi) sono considerati, sia negli Urodeli che negli Anuri, come sistemi regolativi. Negli embrioni di Urodelo il cinto anteriore è considerato tipicamente a mosaico, mentre i casi di sdoppiamento depongono per la regolazione; nel cinto posteriore si osservano fatti regolativi abbastanza estesi. Negli Anuri si è parlato di cinti regolativi. Da molti è ammesso che trattisi, in sostanza, di coesistenza di fatti sia regolativi che a mosaico. È per quest'ultima interpretazione che depongono i casi da me osservati negli Anuri.

Ancora più interessante mi pare la questione della generalmente ammessa indipendenza tra cinto e arto libero. Tale indipendenza, per gli arti indotti di Urodelo, fu ampiamente ribadita dal BALINSKY³⁰ (v. paragrafo 7). Nei miei casi d'induzione negli Anuri, ho avuto sia arti liberi in assenza di emicinto, sia (però solo in due casi) emicinti posteriori senza corrispondente arto libero. Debbo però notare che tale indipendenza ha dei limiti, nel senso che ad un arto libero bene sviluppato corrisponde sempre un emicinto anche se non conformato ugualmente bene. Ribadisco che questo l'ho notato sia per gli arti anteriori che per i posteriori.

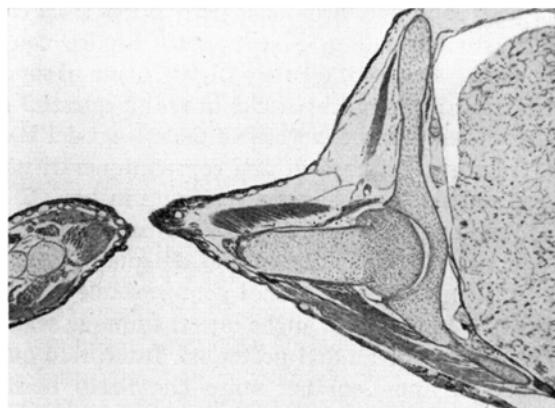


Figura 3. Lo stesso caso della figura 2. Emicinto dell'arto soprannumerario anteriore con la parte prossimale dell'omero. Più all'esterno una sezione dello zeugopodio dello stesso arto (microfotografia).

A conclusione di quanto ho detto sia per la regolazione che per l'interdipendenza tra emicinto ed arto libero, desidero ripetere quanto già dissi in altri lavori, che cioè ai criteri sinora seguiti per la valutazione delle capacità regolative, se ne può aggiungere un altro che emerge dalle mie ricerche sugli arti indotti. Il fatto

cioè che in ogni parte della somatopleura può indursi un arto completo (arto libero ed emicinto), implica che l'intero complesso arto-cinto è, negli Anuri, un sistema essenzialmente regolativo.

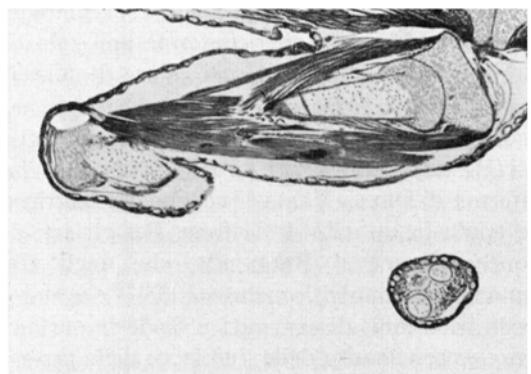


Figura 4. *Bufo vulgaris*. Induzione di un arto soprannumerario posteriore: emicinto, femore, e zeugopodio (microfotografia).

Ho parlato sopra dello scheletro e delle articolazioni degli arti indotti. Per quanto riguarda la muscolatura, questa può essere più o meno abbondante, spesso è scarsissima o anche praticamente assente. Da notare che mentre si può avere lo scheletro dell'arto quasi senza muscolatura, invece non ho mai osservato formazioni muscolari soprannumerarie in assenza dello scheletro dell'arto. Perciò la parte scheletrica dell'arto deve considerarsi come l'induttore della parte muscolare. Alla muscolatura si accompagna l'innervazione, esistendo uno stretto rapporto tra la quantità dell'una e dell'altra.

5. Verifica delle leggi di simmetria speculare del BATESON

Nelle mie ricerche sugli arti soprannumerari negli Anuri, ho sempre esaminato la loro lateralità e quindi la simmetria tra l'arto indotto ed il vicino arto normale; e, nei casi di arti soprannumerari multipli, la simmetria tra gli arti indotti nonché la simmetria tra l'arto normale ed il soprannumerario ad esso più vicino.

Esaminai quindi, nelle particolari condizioni degli arti indotti negli Anuri, la verifica o meno delle leggi di simmetria speculare del BATESON³¹. Queste stabiliscono, essenzialmente, che le appendici (compresi gli arti) soprannumerarie osservate in natura sono solitamente due; che vi è tra esse simmetria speculare, e che vi è simultaneamente simmetria speculare tra l'appendice normale e l'appendice soprannumeraria ad essa più vicina. L'HARRISON³² modificò ed ampliò queste leggi: egli enuncia, in sostanza, che due appendici (arti) sono tra loro in simmetria speculare. Per l'HARRISON i due arti sono di solito un arto trapiantato, la cui

³¹ W. BATESON, *Materials for the Study of Variation* (Macmillan, London 1894).

³² R. G. HARRISON, *J. Exper. Zool.* 32, 1 (1921).

lateralità dipende dall'orientamento del suo asse antero-posteriore, e un arto accessorio che spesso si sviluppa insieme con esso. Si noti quindi che all'arto normale preso in considerazione dal BATESON corrisponde, nell'ampliamento dell'HARRISON, un arto trapiantato. Le leggi della simmetria speculare (enantiomorfismo) ebbero ampie riconferme non solo (PRZIBRAM³³) in altre raccolte assai estese di formazioni soprannumerarie trovate in natura, ma anche per gli arti accessori che si osservano in esperienze di trapianto di arti (HARRISON, SWETT³⁴, ed altri); vi è poi la classica riconferma di DELLA VALLE³⁵ nel suo caso di rigenerazione tripla in un arto di Tritone. Per gli arti da induzione abnorme il BALINSKY, che negli Urodeli ottenne solo arti unici, concluse (1933)¹⁶ che essi sono, pur con eccezioni, disarmonici e diede importanza al diverso accrescimento delle due facce della gemma (la faccia che guarda caudalmente e quella che guarda cefalicamente), ossia alla posizione che veniva assunta dal suo asse antero-posteriore.

Ricordo che secondo la terminologia dell'HARRISON un arto dicesi armonico se la sua lateralità è la stessa del lato del corpo su cui giace (un arto destro, ad esempio, che sia sul lato destro del corpo); dicesi disarmonico se è di lateralità opposta (un arto destro che sia sul lato sinistro del corpo).

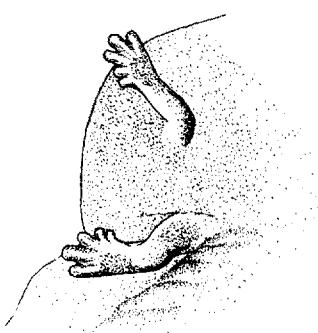


Figura 5. *Hyla arborea*. Induzione, sul lato sinistro del corpo, di un arto soprannumerario posteriore di lateralità destra, in piena simmetria speculare con il vicino arto normale posteriore (disegno).

Per i miei casi di arti soprannumerari negli Anuri (sorvolo sui casi ottenuti in *Triton*, v. paragrafo 7, essendo per questo aspetto in numero insufficiente) tengo qui conto di tutti quelli in cui sia ben riconoscibile non solo la natura di arto anteriore o posteriore, ma anche la lateralità. Nell'accertamento di questa mi sono basato sull'autopodio; rammento che solo in qualche singolo caso gli altri due segmenti dell'arto sono di lateralità opposta. Sono quasi tutti casi portati sino alla metamorfosi; solo qualcuno è a larva sufficientemente avanzata. Unisco ai 45 casi raccolti in un

mio lavoro sull'argomento (1953)³⁶ quelli osservati successivamente sia da me che dalla DEI²⁵ che in questo stesso Istituto usò la mia tecnica. Sono complessivamente 72 casi, tutti in Anuri, in grandissima maggioranza ottenuti in *Bufo vulgaris*.



Figura 6. *Bufo vulgaris*. Induzione, sul lato destro del corpo, di un arto soprannumerario anteriore di lateralità sinistra, in piena simmetria speculare con il vicino arto normale anteriore (disegno).

I casi di arti posteriori soprannumerari unici sono 35. Di essi 24 sono disarmonici (v. fig. 5). Vi sono 8 casi di arti soprannumerari armonici. Altri 3 casi (descritti dalla DEI) sono pure armonici: però in essi si ha che il vicino arto normale si è sviluppato duplice con un componente armonico e l'altro (il più vicino al soprannumerario) disarmonico, sicché in realtà questi 3 casi rappresentano una bella verifica delle leggi del BATESON. Adunque nel caso di arti soprannumerari unici, le leggi del BATESON si sono verificate in ben 27 casi su 35, ossia nel 77% dei casi. Di arti soprannumerari anteriori unici ne ho in tutto 7 casi, dei quali 6 disarmonici (v. figure 6 e 7) e quindi conformi alle leggi del BATESON e 1 armonico: anche questi adunque seguono le stesse leggi che gli arti posteriori. Interpretò questi risultati (v. appresso) nel senso che l'arto normale imprime, nello sviluppo, una lateralità opposta al vicino arto soprannumerario.

Vediamo ora la simmetria speculare negli arti soprannumerari multipli, tanto che siano arti anteriori che posteriori. In alcuni casi trattasi di due arti che possono costituire una «coppia di arti»; a volte trattasi di duplicazioni parziali. Vi sono inoltre pochi casi con tre arti soprannumerari tra loro indipendenti, oppure sono triplicazioni parziali: in questi casi la simmetria speculare va esaminata tra due arti contigui. Debbo

³³ H. PRZIBRAM, Arch. Entw. mech. 48, 205 (1921).

³⁴ F. H. SWETT, J. Exper. Zool. 44, 419 (1926).

³⁵ P. DELLA VALLE, Boll. Soc. natur. Napoli 25 (1911-1912).

³⁶ T. PERRI, Arch. Zool. Ital. 38 (1953); Rend. Accad. naz. Lincei 14 (serie 8^a), 563 (1953).

notare a proposito delle formazioni soprannumerarie plurime, che non sempre i vari componenti di una stessa formazione sono ugualmente conformati: può avvenire che di due arti uno lo sia molto bene e invece l'altro sia atipico. Non bisogna vedere in questo, e l'ho già detto in precedenti pubblicazioni, una mancata verifica delle leggi del BATESON, perché il realizzarsi di una buona conformazione dipende da vari fattori che si succedono nello sviluppo e anche, ad esempio, dal fatto che due gemme che derivino da due zone vicine di somatopleura (v. il paragrafo 4) abbiano diverso volume, il che può dipendere sia da diversa intensità di stimolo tra le due zone, sia dalla posizione o vicinanza di queste due zone rispetto all'arto normale. A conferma di ciò si tenga presente che di due arti soprannumerari il meglio conformato è quasi sempre quello più vicino all'arto normale, e ho già detto che la somatopleura è più suscettibile nelle sue parti più vicine all'arto normale.

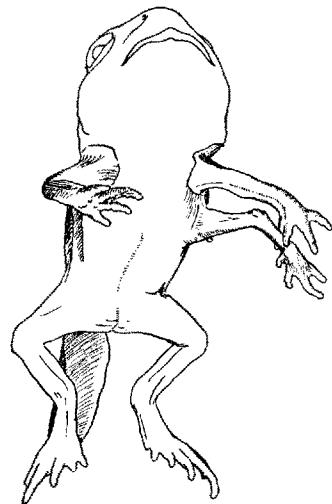


Figura 7. *Bufo vulgaris*. Induzione, sul lato sinistro del corpo, di un arto soprannumerario anteriore di lateralità destra, in piena simmetria speculare con il vicino arto normale anteriore (disegno).

Per quanto riguarda la simmetria tra gli arti soprannumerari, i due arti delle formazioni dupliche, o due arti consecutivi di una formazione plurima, sono stati tra loro in simmetria speculare in 19 casi su 19, ossia senza nessuna eccezione. Sono risultati assai interessanti, perché danno una chiara dimostrazione dell'esistenza di una dominanza, per quanto riguarda la lateralità, di un arto su un altro. Vedremo tra poco quale di questi due arti sia quello che imprime all'altro una lateralità opposta.

Per la simmetria tra l'arto normale ed il soprannumerario ad esso più vicino, osservo che negli ora detti 19 casi si è avuto quasi sempre (in 17 casi su 19) che il componente più vicino all'arto normale è pure con questo in simmetria speculare; si è quindi avuta la successione: arto normale (armonico), arto soprannumerario disarmonico, arto soprannumerario armonico. Ho poi altri 11 casi nei quali dei due arti soprannumerari

solo in uno è chiara la lateralità, e precisamente in quello più vicino all'arto normale in 9 casi, e in quello più lontano negli altri 2. Orbene nei primi 9 casi si è avuta simmetria speculare tra l'arto normale ed il vicino soprannumerario, cioè la successione: arto normale (armonico), arto soprannumerario disarmonico, arto soprannumerario atipico. Negli altri 2 si è avuta la successione: arto normale (armonico), arto soprannumerario atipico, arto soprannumerario armonico: non mi pare che questi due casi possano considerarsi in contraddizione con le leggi del BATESON, a causa dell'atipia del primo arto soprannumerario. La simmetria speculare tra l'arto normale ed il soprannumerario ad esso più vicino mostra che questo arto soprannumerario si comporta di regola (26 casi su 28, ossia nel 92,5% dei casi) come fosse un arto unico, ossia subisce, come tutto lascia ritenere, l'azione dominante dell'arto normale. L'arto soprannumerario più vicino al normale domina a sua volta (in tutti i casi finora osservati) sull'altro arto soprannumerario imprimendogli una lateralità opposta.

Questa interpretazione basata sulla teoria della dominanza fisiologica del CHILD³⁷, che l'applicava agli arti normali, pur essendo una interpretazione, mi pare sia oggi la più accettabile perché la più aderente ai fatti finora osservati e perché si addice agli arti soprannumerari sia unici che plurimi. Si è visto infatti che un arto soprannumerario, o che trattisi di un arto unico o che in una formazione plurima sia il più vicino all'arto normale, assume di regola (si è verificato in 59 casi su 70, ossia nell'84,2% dei casi³⁸) una lateralità opposta a quella dell'arto normale; il successivo arto soprannumerario (più lontano dal normale), se esiste, ha sempre una lateralità opposta a quella del primo arto soprannumerario. Adunque la capacità ad imprimere una lateralità opposta ad un altro arto va diminuendo gradualmente (segue un gradiente) man mano che ci si allontana dalla zona dell'arto normale. Questa capacità appare, in definitiva, un aspetto quantitativo della competenza artoformativa della somatopleura.

Adunque le leggi di simmetria speculare del BATESON sono, in queste particolari condizioni di arti soprannumerari da induzione abnorme, ampiamente verificate; e le poche eccezioni osservate vanno quindi interpretate come effetto di condizioni secondarie intervenute durante lo sviluppo.

6. Sistema nervoso e mobilità degli arti

Tra gli arti soprannumerari da induzione abnorme, quelli dotati di mobilità sono rarissimi: negli Urodeli non ne furono osservati, negli Anuri potei descriverne

³⁷ C. M. CHILD, *Patterns and Problems of Development* (Univ. of Chicago Press, Chicago 1941).

³⁸ I 70 casi sono così ripartiti: 42 casi di arti unici, 19 casi di arti multipli con chiara lateralità dei componenti, 9 casi di due arti dei quali solo quello più vicino al normale è di chiara lateralità.

6 casi con mobilità più o meno estesa. Per l'esame delle condizioni che rendono possibile la mobilità, ho esaminato istologicamente in questi ultimi casi – tutti in *Bufo vulgaris* – la conformazione dello scheletro, delle articolazioni, della muscolatura e del sistema nervoso (nervi, gangli spinali, midollo spinale), comparando con quanto si osserva negli arti soprannumerari immobili³⁹.

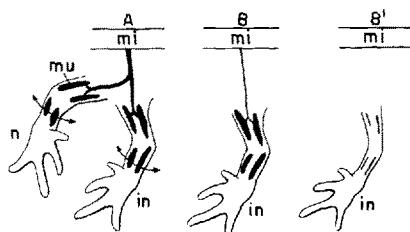


Figura 8. Schema delle connessioni nervose degli arti soprannumerari indotti. È limitato alla parte di midollo spinale (mi) corrispondente alla metà anteriore del tronco, dove la somatopleura ha la competenza a dare arti soprannumerari anteriori. In A è schematizzato il plesso brachiale che innerva sia l'arto normale (n) sia, ed in quantità sufficiente, l'arto indotto (in), tra loro in simmetria speculare: i loro movimenti (indicati dalle frecce) sono specularmente simmetrici. In B è rappresentato un arto indotto immobile che presenta abbondante muscolatura (mu) e innervazione da parte di un tratto di midollo spinale sito caudalmente al tratto brachiale. In B' è un arto indotto immobile con muscolatura quasi assente e senza innervazione. (Da T. PERRI; Rend. Accad. naz. Lincei, 1954.)

Negli arti soprannumerari mobili la conformazione dello scheletro e delle articolazioni è assai regolare, e la quantità della muscolatura è notevole. Ciò può anche ritenersi ovvio, altrimenti non sarebbe possibile la mobilità. Per quanto riguarda la comparazione con gli arti soprannumerari non dotati di mobilità, è da tener presente che anche in questi scheletro, articolazioni e muscolatura possono essere ben conformati.

Le differenze (v. figura 8) che ho costantemente notate tra arti mobili ed immobili sono nell'innervazione. Negli arti mobili essa è sempre provenuta, o completamente o almeno in parte cospicua, dai normali plessi degli arti; inoltre l'innervazione, come quantità, è stata sempre notevole pur rimanendo inferiore al normale. Negli arti immobili, invece, l'innervazione non proviene affatto, o solo in quantità minima, dai normali plessi degli arti; la quantità d'innervazione è stata più scarsa che nei casi con mobilità.

I gangli spinali corrispondenti alla zona dell'arto soprannumerario sono aumentati di volume; nella regione motoria del midollo spinale non si notano cospicue variazioni in rapporto con l'aumentato campo d'innervazione. Negli arti soprannumerari, indipendentemente sia dalla mobilità che dalla quantità di muscolatura, si possono rilevare fascetti nervosi in rapporto con la loro cute.

³⁹ T. PERRI, Rend. Accad. naz. Lincei 15 (serie 8^a), 463 (1953); 16 (serie 8^a), 118 (1954); 16 (serie 8^a), 291 (1954); Riv. Biol. 47, 2 (1954).

7. Arti soprannumerari nei Tritoni

Allo scopo di stabilire una diretta comparazione, tra Anuri ed Urodeli, dei fattori che portano all'induzione di arti soprannumerari, ho iniziato⁴⁰ esperienze in *Triton taeniatus* usando come stimolo sostanze citolitiche. La tecnica usata è stata infatti la stessa che per gli Anuri: trapianto, su embrioni normali, della parte apicale della testa di embrioni röntgenirradiati con dosi nettamente letali. Gli embrioni donatori furono di tritone, oppure di *Rana esculenta* e in qualche caso di *Discoglossus pictus*. Il trapianto fu eseguito allo stadio di giovani embrioni, nella zona del tronco dove la somatopleura ha competenza a dare arti anteriori.

La tecnica di usare come sorgente di stimolo sostanze citolitiche, provenienti da un trapiantato che va in necrosi per effetto della röntgenirradiazione subita, ha dato anche in tritone risultati positivi d'induzione di arti soprannumerari, in alcuni casi ben conformati (v. figura 9). Usando invece gli stessi trapianti, però da embrioni normali (cioè trapianto di tessuti non destinati ad andare in necrosi), i risultati positivi furono scarsissimi.



Figura 9. *Triton taeniatus*. Induzione di un arto anteriore soprannumerario di lateralità destra sul lato destro del tronco (disegno).

L'esame istologico permette di aggiungere che l'emicinto degli arti indotti è costituito, al massimo, da un pezzo cartilagineo con un'incompleta cavità articolare in rapporto con la testa dell'omero; e questo solo in due casi (v. figure 10 e 11), mentre negli altri l'emicinto è stato del tutto rudimentale o addirittura assente.

È qui da ricordare che il BALINSKY⁴⁰ avendo notato nei suoi casi di arti soprannumerari nei Tritoni, che in corrispondenza degli arti anteriori soprannumerari non vi erano emicinti o questi erano del tutto rudimentali, aveva distinto un mesenchima che forma l'arto libero anteriore da un mesenchima che costituisce il cinto anteriore.

Come ho già accennato nel paragrafo 4, negli Anuri non ho rilevato una tale differenza, perché in essi si

⁴⁰ B. I. BALINSKY, Roux' Arch. Entw. mech. 116, 604 (1929).

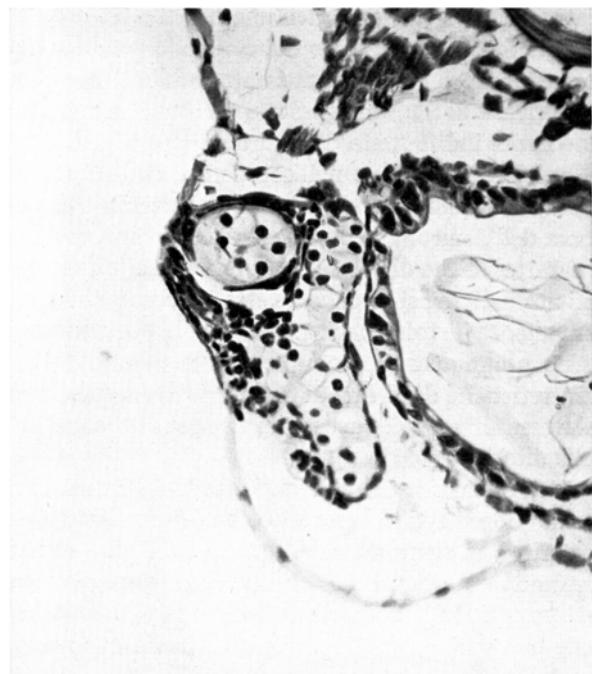


Figura 10. Lo stesso caso della figura 9. Emicinto anteriore incompleto, con cavità glenoidea in rapporto con l'omero (microfotografia).

ottengono, con gli arti liberi sia anteriori che posteriori, emicinti ben conformati sia anteriori sia, rispettivamente, posteriori. Per quanto riguarda gli Urodeli mi pare che con sicurezza si possa dire solo questo, che l'indipendenza tra l'arto libero e l'emicinto è maggiore che negli Anuri. La sperimentazione con sostanze citolitiche non è negli Urodeli abbastanza progredita per decidere quale importanza vi abbia la potenza dello stimolo, ossia per accertare se l'induzione dell'emicinto richieda uno stimolo più forte che l'induzione dell'arto libero. Si tenga presente che nei due casi delle figure 10 e 11, che sono stati i migliori, l'induzione fu ottenuta mediante il trapianto della parte apicale della testa di Anuro (di *Rana esculenta* nel caso delle figure 9 e 10; di *Discoglossus pictus* nel caso della figura 11) röntgen-irradiato, il quale trapianto ha mostrato, anche per l'induzione degli arti liberi, una maggiore capacità di stimolo (forse per il maggior volume) che non il corrispondente trapianto da tritone.

Queste ricerche sull'induzione di arti soprannumerari negli Urodeli saranno continue per una più approfondita comparazione, morfologica e causale, tra gli arti degli Anuri e quelli degli Urodeli.

8. Arti soprannumerari e colonna vertebrale

Ho già ricordato nell'Introduzione che alla conformazione profondamente diversa degli arti posteriori, a seconda che siano di Anuri oppure di Urodeli, è correlativa una diversa conformazione della colonna vertebrale. Sia le peculiarità degli arti posteriori che quelle della colonna vertebrale degli Anuri sono in armonia

con la loro attitudine al salto. Ritenni quindi opportuno dedicare delle ricerche, negli Anuri (sperimentalmente in *Bufo vulgaris*), alle connessioni tra la colonna vertebrale ed il cinto posteriore⁴¹.

Premetto che nel processo laterale della vertebra sacrale degli Anuri bisogna distinguere una porzione basale (che è un processo trasverso uguale a quello delle altre vertebre) dal rimanente della formazione (che ho interpretato come costa sacrale). Le mie ricerche mi hanno mostrato un'indipendenza di sviluppo del processo laterale (a parte la sua porzione basale) rispetto alla vertebra sacrale. A conferma di ciò osservai, in alcuni casi d'induzione di arti soprannumerari, che l'apice dell'ileo soprannumerario era in connessione con una cartilagine che per la forma e per la connessione stessa con l'ileo interpretai come un processo laterale. Da questa indipendenza del processo laterale (a parte la sua porzione basale) e dal fatto ben noto (DÜRKEN⁴², DRAGOMIROWA⁴³, HODLER⁴⁴) che esso è indotto dall'ileo, ho tratto la conclusione che il processo laterale (a parte la sua porzione basale) della vertebra sacrale appartiene al sistema morfologico dell'arto e dell'emicinto.

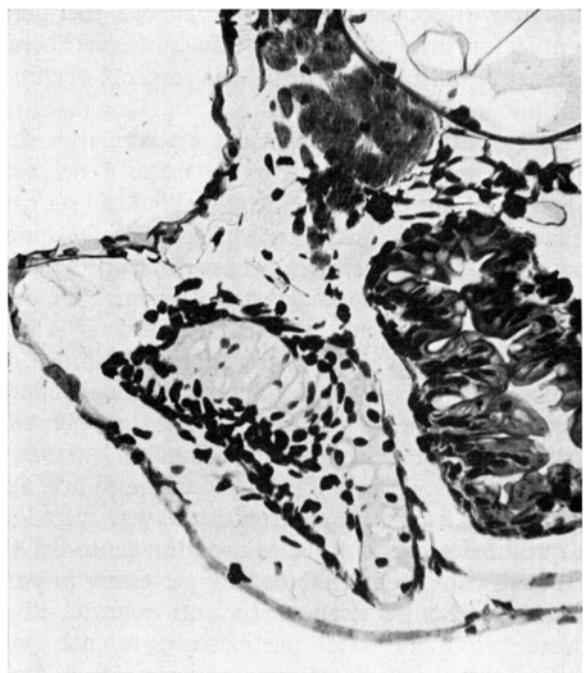


Figura 11. *Triton taeniatus*. Induzione di un arto soprannumerario. Emicinto anteriore incompleto, e parte prossimale dell'omero (microfotografia).

Orbene, la corrispondenza (v. paragrafo 3) tra la parte della somatopleura che ha competenza a dare arti e

⁴¹ T. PERRI, Rend. Accad. naz. Lincei 13 (serie 8^a), 288 (1952); Arch. ital. Anat. Embr. 48, 186 (1953).

⁴² B. DÜRKEN, Z. wiss. Zool. 99, 183 (1911); *Experimental Analysis of Development* (Norton, New York 1932).

⁴³ N. DRAGOMIROWA, Zool. Jb. allg. Zool. Physiol. 54, 249 (1935).

⁴⁴ F. HODLER, Rev. suisse Zool. 56, 747 (1949).

cinti posteriori e la parte della colonna vertebrale che ha competenza alla sacralizzazione, mi sembra di grande interesse perché convalida, sotto una luce nuova, la stretta correlazione tra arto posteriore e sacralizzazione.

9. Conclusioni

Come si è visto nel corso del lavoro, la linea direttiva di tutto questo insieme di ricerche che ho eseguito è stato lo studio del complesso induttore-competenza, quale si estrinseca nell'induzione degli arti soprannumerari negli Anuri, e come vari secondo le diverse zone della somatopleura, secondo le specie usate e secondo lo stadio nel quale si esperimenta.

Del complesso induttore-competenza me ne ero già occupato molti anni addietro, nel corso di ricerche sperimentalistiche sull'abbozzo lentogeno, particolarmente (dal 1934) in *Rana esculenta*. Più recentemente mi sono occupato di un parallelo tra le variazioni del complesso induttore-competenza quali si verificano nello sviluppo dell'abbozzo lentogeno e nello sviluppo degli arti⁴⁵.

Nel meccanismo dell'induzione degli arti soprannumerari, lo stimolo è completamente aspecifico, ciò che importa è che abbia una sufficiente intensità. Il trapianto di abbozzi röntgenirradiati con dosi nettamente letali, in modo che vanno in necrosi e così liberano sostanze citolitiche, costituisce una sorgente di stimolo continuo e di notevole intensità.

L'altro fattore è la competenza artoformativa della somatopleura. Poiché lo stimolo usato è del tutto aspecifico, si ha che la specificità dell'indotto sta tutta nella competenza della somatopleura. Perchè questa competenza si estrinsechi è necessario, come sopra ho detto, che l'intensità dello stimolo superi un certo limite o soglia. Orbene, l'altezza di questa soglia varia sia da specie a specie, sia tra Anuri ed Urodeli. La tecnica del trapianto dell'abbozzo otico che negli Urodeli aveva dato risultati positivi (ho più volte ricordata l'amplissima sperimentazione del BALINSKY), non aveva invece dato alcuna induzione di arti negli embrioni di Anuri. L'opportunità di avere introdotto in queste ricerche la forte azione stimolante del trapianto di complessi di abbozzi che per essere in particolari condizioni liberano sufficienti quantità di sostanze citolitiche, sta particolarmente nel poter studiare l'induzione di arti soprannumerari negli Anfibi Anuri. Questi, chiamati pure Anfibi saltatori, in armonia con la loro attitudine al salto presentano gli arti (e relativamente lo scheletro assile, il sistema muscolare, ecc.) conformati in modo profondamente diverso rispetto agli Urodeli, e inoltre presentano gli arti posteriori notevolmente diversi dagli anteriori. Le differenze negli arti esistenti tra Anuri ed Urodeli, si ripetono negli arti soprannumerari a seconda che siano

stati indotti in embrioni dell'uno o dell'altro ordine di Anfibi. Siamo nell'ambito del controllo genetico della competenza, di cui troviamo un mirabile esempio nell'esperienza di SPEMANN e SCHOTTÉ¹⁵: nel trapianto di ectoderma indifferente di Anuro su Urodelo si ha che l'Urodelo può indurre nell'ectoderma dell'Anuro una bocca, ma questa avrà tutte le caratteristiche della bocca dell'Anuro. La competenza a dare arti con tutte le caratteristiche di specie non è limitata alle zone degli arti normali, ma si estende a tutta la somatopleura con competenza artoformativa. Così in *Hyla arborea* gli arti soprannumerari ovunque indotti hanno tutte le caratteristiche degli arti di *Hyla arborea*, come è particolarmente agevole accertarsene per le peculiarità delle dita.

Similmente si ha, negli Anuri, che le differenze che si hanno negli arti a seconda che siano anteriori o posteriori, si ripetono negli arti indotti. La somatopleura dà anteriormente arti anteriori, posteriormente arti posteriori: i limiti tra le due zone non sono netti onde può parlarsi di una zona intermedia ove possono avversi sia arti anteriori che posteriori.

È molto interessante notare (osservazioni negli Anuri) che alla parte di somatopleura che ha competenza a dare arti e cinti posteriori, corrisponde la zona di colonna vertebrale che ha competenza alla sacralizzazione. Infatti (v. paragrafo 3) la vertebra più cefalica nella quale si è riusciti negli Anuri a indurre la sacralizzazione è la 6^a (HODLER) e in un mio caso di trapianto persino la 5^a. L'importanza di questa corrispondenza (è inutile che qui ripeta quanto ho già detto nel paragrafo 8) sta nel porre in luce le strette correlazioni tra arti-cinti posteriori e sacralizzazione.

Nella metà posteriore della somatopleura si ha, negli Anuri, una facilità a indurre arti soprannumerari maggiore che nelle parti anteriori. Inoltre nelle zone posteriori gli arti indotti sono di lunghezza maggiore di quelli indotti nelle zone anteriori: gli arti sono tanto più lunghi quanto più la zona ove vengono indotti è vicina al normale arto posteriore, però non ho mai osservato arti indotti che siano stati più lunghi degli arti normali posteriori. Tali differenze di lunghezza negli arti indotti non si hanno invece negli Urodeli, ove (a parte quelli con arti posteriori ridotti o assenti) non vi sono cospicue differenze di lunghezza tra arti anteriori e arti posteriori.

Un altro aspetto della competenza lo abbiamo pure visto a proposito della lateralità degli arti indotti. L'arto normale imprime ad un arto soprannumerario unico (o al soprannumerario più vicino nel caso di arti multipli) una lateralità opposta; e questo arto soprannumerario a sua volta imprime una lateralità opposta al successivo arto soprannumerario (nel caso vi siano più arti soprannumerari). Di due arti soprannumerari, quindi, il dominante nel determinismo della lateralità è quello più vicino all'arto normale. Questa è una interpretazione, ma che è basata su un gran numero di casi.

⁴⁵ T. PERRI, Ricerca Scientifica 22, 864 (1952); Riv. Biol. 44, 181 (1952).

Viene così prospettato che la lateralità degli arti indotti è un aspetto quantitativo della competenza artoformativa della somatopleura.

Ho accennato sopra alla differente suscettibilità della competenza artoformativa della somatopleura a seconda che si tratti di Anuri o di Urodeli. Anche nell'ambito degli Anuri esistono, a tal riguardo, differenze assai ampie da specie a specie. Da *Bufo vulgaris* ove si ottengono con grande facilità arti soprannumerari, si giunge sino a *Rana esculenta* ove finora non sono riuscito ad avere alcun caso positivo.

Molto interessanti sono le variazioni a seconda dello stadio nel quale si esperimenta. In *Bufo vulgaris*, con la tecnica da me usata, eseguendo il trapianto nella seconda metà dello stadio embrionale (dopo lo stadio corrispondente al no. 21 delle tavole dello sviluppo normale di *Rana pipiens* sec. SHUMWAY) non si sono più ottenuti arti soprannumerari. Ecco qui un caso di dissociazione tra lo stimolo, che è quello stesso che in stadi precedenti dava risultati positivi, e la competenza artoformativa che è ora scomparsa o, più probabilmente, è molto diminuita. La stessa dissociazione tra stimolo e competenza si ha pure, ad esempio, in alcuni casi d'induzione dell'abocco lento-geno, come ho detto ampiamente in altri lavori.

La mobilità degli arti soprannumerari, che abbiamo visto essere rarissima, è particolarmente in rapporto con il ricevere o meno l'innervazione dai normali plessi degli arti; ed è quindi legata alla possibilità di connessioni nervose con particolari regioni del midollo spinale (intumescenza anteriore o posteriore) che, come tutto lascia ritenere, sono, per la parte motoria, a precoce determinazione.

Come si vede, la concezione del complesso induttore-competenza, con le sue variazioni, ci permette di dare sempre più ordine a tutto un insieme di dati sperimentali e comparati.

Summary

By means of cytolytic substances, many supernumerary limbs were induced in anuran amphibians. Cephalic portions of embryos, previously x-irradiated with highly lethal doses, were transplanted on to the

trunk of normal embryos at the early tail bud stage. The x-irradiated transplant gradually became necrotic and gave out cytolytic products. These stimulated the somatopleura, with which they came into contact, to produce heaps of mesenchymatic cells, from which the axial portions of one or more supernumerary limbs were formed (see Fig. 1).

Three zones can be distinguished in the somatopleura: an anterior zone, having the competence to form only anterior limbs, a posterior zone, only forming posterior limbs, and a medial zone, forming both anterior and posterior limbs, which are often atypical.

The length of an induced limb, in the anourans is due to the zone of the somatopleura which has induced it; the nearer this zone is to the normal limb zone, the longer the induced limb, which can be as long as the normal limb.

The competence of the somatopleura to form limbs varies according to the species used. The best results were obtained in *Bufo vulgaris*; good results in *Hyla arborea*; and some cases also in *Discoglossus pictus*. No positive case was obtained in *Rana esculenta*. It may be observed that positive cases were obtained using x-irradiated embryos of *Rana esculenta* as donors and embryos of *Hyla arborea* as hosts.

With this technique, the competence to form limbs is seen up to the stage 21 of SHUMWAY's developmental tables of *Rana pipiens*.

The morphological structure of the different parts of the induced limbs shows many variations. In the best cases, the skeleton both of the free limb and of the girdle is almost normal; the joints can be well formed also in non-functioning limbs, the muscles can be well developed and the nerves present. A relative dependance is shown between the girdle and the free limb.

The possibility of obtaining a limb (free limb and girdle) from any zone of the somatopleura between the limbs shows that in the anourans the limb (free limb and girdle) is an essentially regulative system. BATESON's rules of specular symmetry were verified in this condition of induced supernumerary limbs.

Very seldom, and only in *Bufo vulgaris*, were cases of limbs having higher or lower capacity of moving by themselves observed. From the morphological point of view, the moving limbs are distinguished from the others by their well developed innervation coming (at least chiefly) from the normal plexuses of the limbs.

The zone of somatopleura, having the competence to give posterior limbs, corresponds, in the anourans, to the portion of the vertebral column which can be sacralized (up to the 5th vertebra). Recent experiments show that supernumerary limbs can also be obtained in *Triton* by means of x-irradiated transplants.